

氏 名	瀬戸 茂樹
学 位 の 種 類	博士 (薬学)
学 位 記 番 号	博乙第 304 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 22 日
学位授与の要件	論文博士 (学位規則第 4 条第 2 項)
学位授与の題目	新規二環性ピリジン及びピリミジンを基本骨格とするタキキニン (NK <sub>1</sub> ) 受容体拮抗薬の創製研究
論文審査委員 (主査)	大場 正志 (学際科学実験センター・助教授)
論文審査委員 (副査)	染井 正徳 (自然科学研究科・教授), 石橋 弘行 (自然科学研究科・教授), 宮本 謙一 (医学部附属病院・教授), 向 智里 (自然科学研究科・教授)

## Abstract

A series of novel bicyclic pyridine and pyrimidine derivatives was prepared as a part of a search for NK<sub>1</sub> antagonists that could provide effective treatment for urinary incontinence. Novel pyrido[4,5-*b*]-1,5-oxazocines and pyrido[2,3-*b*]-1,5-oxazocines were designed by incorporating a 2-[3,5-bis(trifluoromethyl)benzyloxy]-1-phenylethylamine fragment into the pyridine ring, and prepared by a convenient and diversity-oriented method. These compounds were then evaluated for *in vitro* activity using the guinea pig ileum contraction assay and for their *in vivo* activity in increasing the effective bladder capacity of guinea pigs. Among them, 9-[4-(pyrrolidiny)piperidino]-7-(2-methylphenyl)-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyrido[4,3-*b*]-1,5-oxazocin-6-one (**2a**) and pyrido[2,3-*b*]-1,5-oxazocin-6-one isomer (**3a**) each similarly showed potent NK<sub>1</sub> antagonist activity *in vitro*, although the *in vivo* activity of **3a** was superior to that of **2a**. On the other hand, the chemical properties of **2a** were more suitable for a drug discovery program than those of **3a**, due to the free rotation about the biaryl bond of **2a**. Next, pyrimido[4,5-*b*][1,5]oxazocine **10a**, designed and synthesized as a hybrid compound of **2a** and **3a**, was found to possess both of the advantageous characteristics of **2a** and **3a**. To further examine the structural requirements for activity, various chemical modifications were performed on the bicyclic pyrimidines. Among them, **10b** (KRP-103), a pyrimido[4,5-*b*][1,5]oxazocine derivative bearing a 4-acetylpiperazinyl group and a 2-methylphenyl group, was identified as the most potent and orally active NK<sub>1</sub> antagonist. KRP-103 is expected to be a promising agent for the treatment of urinary incontinence.

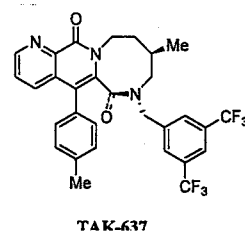
## はじめに

タキキニンは、C 末端に Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> という共通アミノ酸配列を有するペプチドの総称であり、サブスタンス P (SP)、ニューロキニン A (NKA)、ニューロキニン B (NKB) の 3 種が同定されている。その受容体は、それぞれのタキキニンに対する親和性により、ニューロキニン 1 受容体 (NK<sub>1</sub> 受容体)、ニューロキニン 2 受容体 (NK<sub>2</sub> 受容体)、ニューロキニン 3 受容体 (NK<sub>3</sub> 受容体) の 3 種に分類され、不安、鬱、精神分裂病、偏頭痛、嘔吐、喘息、慢性閉塞性肺疾患、過敏性大腸炎、尿失禁等の様々な疾患に関与していることが知られている。これらのうち、著者は特に膀胱機能における NK<sub>1</sub> 受容体の役割に着目した。NK<sub>1</sub> 受容体は膀胱や尿道の求心性神

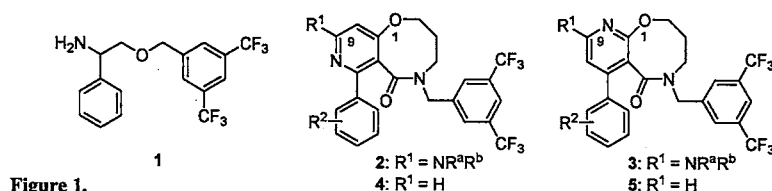
経に局在し、膀胱の伸展及び侵害の伝達に関与するものとされていることから、その拮抗薬は頻尿・尿失禁の治療薬として有用であると考えられる。また、抗コリン薬のように膀胱筋そのものを緩めるのではなく、排尿を司る排尿中枢への知覚入力をブロックして尿失禁や排尿回数を減少させるため、抗コリン薬の副作用として知られている残尿を生じないことも期待できる。このような背景から、著者は、頻尿・尿失禁の治療薬の開発を目的とした新規 NK<sub>1</sub> 受容体拮抗薬の創製に着手した。

## 第1章 薬物設計

これまでに NK<sub>1</sub> 受容体拮抗薬に関する数多くの研究がなされているが、頻尿・尿失禁の治療薬として開発が進められた化合物としては、「TAK-637」が唯一報告されているのみであった。しかしながら、本化合物は臨床第二相試験において中断されており、NK<sub>1</sub> アンタゴニスト作用に基づく頻尿・尿失禁の治療薬が薬として承認された例は未だにない。



NK<sub>1</sub> 受容体拮抗薬の必須構造として、 $\pi-\pi$  相互作用 (或いは CH- $\pi$  相互作用) によるスタッキングコンホメーションを取り得る 2 個の



アリール基の存在、及びそれと反対側に位置する塩基性窒素の存在が報告されている。これらの構造的特徴を備えた最も小さい化合物として **1** が報告されている。著者は、化合物 **1** をピリジン環に組み込み、さらに他の NK<sub>1</sub> 受容体拮抗薬から推定される活性向上に必要な部分構造をコンピューターモデリングにより推定し、新規リード化合物 **2** 及び **3** をデザインした (図 1)。

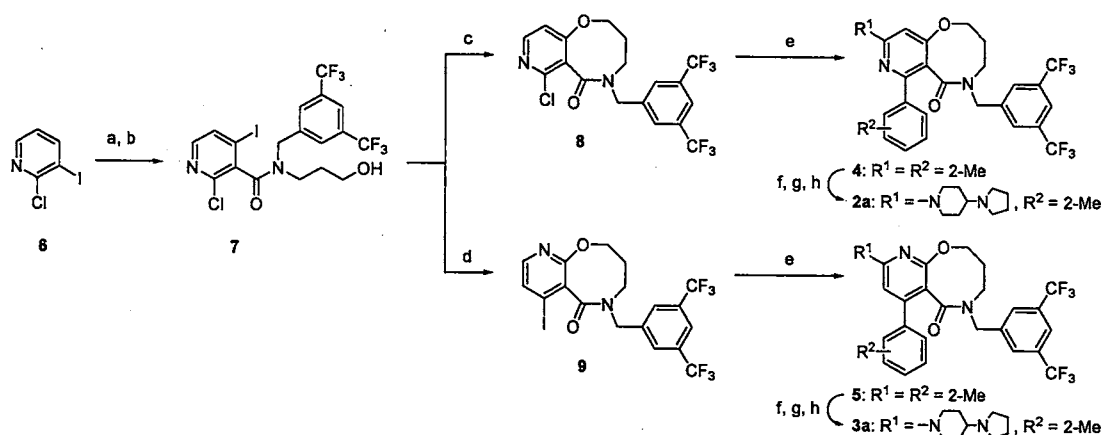
## 第2章 二環性ピリジン誘導体の合成

Pyrido[2,3-*b*]-1,5-oxazocine 骨格 **3** は、これまでに唯一、9 位未置換体 **5** (R<sup>2</sup> = H) の合成が報告されているが、多くの工程数を要し、スクリーニングサンプルを合成するためには効率的ではない。一方、pyrido[4,3-*b*]-1,5-oxazocine 骨格 **2** の合成は全く報告されていない。そこで著者は、ピリジン体 **6** より誘導した化合物 **7** に対して位置選択的閉環反応を行うことにより **8** 及び **9** に導き、さらに鈴木反応を利用してビアリール結合を構築し、**4** 及び **5** を合成することを検討した。その結果、溶媒及び塩基の種類により **7** の閉環反応の方向性を変えることができることを見出し、**4** 及び **5** の新規合成ルートを確認することができた。続いて、Meisenheimer 反応によるクロル原子導入後、種々のアミンを用いた求核置換反応により 9 位アミノ基を導入し、目的とする **2** 及び **3** を合成することに成功した (スキーム 1)。

合成したピリジン誘導体の中で、最も優れた *in vitro* 活性 (NK<sub>1</sub> アンタゴニスト活性及び代謝安定性) を示した **3a** と、そのピリジン窒素位置異性体である **2a** について、モルモットを用いた有効膀胱容量増大作用を指標とした *in vivo* での効果を検討した。その結果、**2a** 及び **3a** は、ほぼ同等の *in vitro* 活性 (K<sub>B</sub> = 0.339—0.210 nM) を示したにも関わらず、*in vivo* では **2a** は弱く (3.97%)、**3a** は強い (24.2%) 有効膀胱容量増大作用を示した。

また、**2a** 及び **3a** は、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルから、ビアリール部分の回転障害の程度に差があることが判明した。すなわち、**2a** のベンジル位プロトンは 1 組の AB パツタ

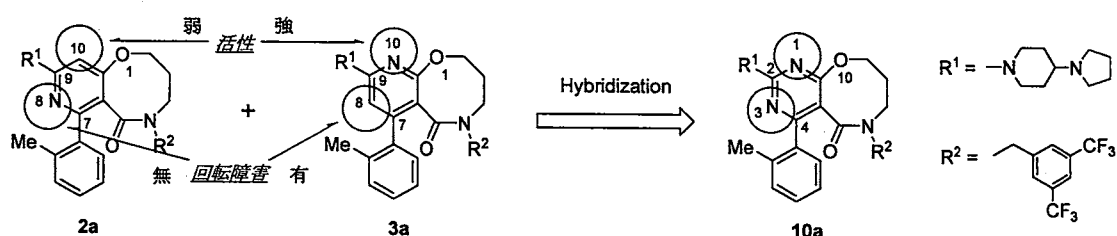
ーンとして観測されるのに対して、**3a** は更に割れて 2 組の AB パターンとして観測された。これらの結果から、8 位が N である **2a** のビアリアル結合の回転は自由であり、8 位が CH である **3a** の場合には立体障害により回転が制限されることが判明した。



**Scheme 1. Reagents and conditions:** (a) (1) LDA, THF (2)  $\text{CO}_2$  (3) HCl; (b) (1)  $\text{SOCl}_2$ , DMF (2) 3-[[3,5-bis(trifluoromethyl)benzyl]amino]-1-propanol, THF; (c)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , EtOH; (d) NaH, THF; (e) 2-methylphenylboronic acid, 10 mol%  $\text{Pd(PPh}_3)_4$ , 2 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , toluene, dioxane; (f) *m*CPBA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (g)  $\text{POCl}_3$ ; (h) 4-pyrrolidinylpiperidine, 1,4-dioxane.

### 第 3 章 二環性ピリミジン誘導体の合成

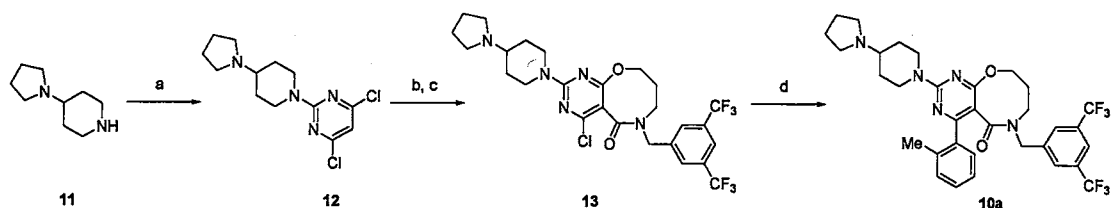
第 2 章での結果、薬理活性面では **3a** が、軸性キラリティー面では **2a** が望ましい構造であるといえることから、これらのハイブリッド化合物として新たに pyrimido-oxazocine 骨格を有する **10a** をデザインした (図 2)。本骨格は、新規なリングシステムであり、合成的にも興味深いものである。



**Figure 2.**

出発原料である 4-(ピロリジニル)ピペリジン **11** から導いたジクロロピリミジン体 **12** を LDA 処理後、二酸化炭素を導入して 5-カルボン酸へと導いた後、アミノアルコールとの縮合反応及び NaH を塩基として用いた環化反応により、pyrimido-oxazocine 環を構築した。最後にクロル体 **13** とアリールボロン酸との鈴木カップリング反応により、ビアリアル結合を構築し、目的とする **10a** を合成することに成功した (スキーム 2)。

新たに合成した pyrimido-oxazocine **10a** について  $^1\text{H-NMR}$  スペクトルを測定し、薬理活性を評価した結果、**10a** は pyrimido-oxazocine **2a** と **3a** の両方の性質、すなわち、ビアリアル結合の回転が自由であること (**2a** に由来) 及び強力な有効膀胱容量増大作用を示すこと (**3a** に由来) を併せ持つ化合物であることが判明した (表 1)。



**Scheme 2.** Reagents and conditions: (a) (1) HCl-dioxane (2)  $\text{H}_2\text{NCN}$  (3)  $\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{Et})_2$ , NaOEt, EtOH, reflux (4)  $\text{POCl}_3$ , reflux, 22%; (b) (1) LDA, THF,  $-78^\circ\text{C}$ , 5 h (2)  $\text{CO}_2$ , 1 h (3) HCl, rt, 1 h; (c) (1)  $\text{SOCl}_2$ , DMF, reflux, 2 h (2) 3-[[3,5-bis(trifluoromethyl)benzyl]amino]-1-propanol, THF,  $0^\circ\text{C}$ , 1 h then rt, 3 h; (3) NaH, DMF,  $0^\circ\text{C}$ , 1 h, 13%; (d) 2-methylphenylboronic acid, 10 mol%  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , 2 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , toluene, dioxane, reflux, 6 h, 51%.

**Table 1.**

Compd	X	Y	$^1\text{H-NMR}^a$ ppm, d (Hz) (benzylic methylene protons)	NK <sub>1</sub> antagonist activity <sup>b</sup> $\text{K}_B$ (nM)	Effective bladder capacity increasing ratio (%) (0.3 mg/kg iv) <sup>c</sup>
2a	N	CH	3.93, 5.34 (each 1H, d, $J=15.3\text{Hz}$ )	0.339	3.97
3a	CH	N	3.94, 3.95, 5.36, 5.39 (each 0.5H, d, $J=15.3\text{Hz}$ )	0.210	24.2
10a	N	N	3.84, 5.32 (each 1H, d, $J=15.3\text{Hz}$ )	0.166	33.4

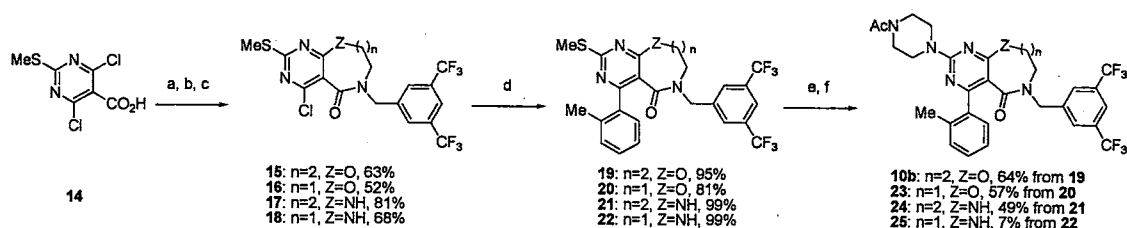
<sup>a</sup>) In  $\text{CDCl}_3$ ; d=doublet.

<sup>b</sup>) Compounds were screened for antagonist activity on guinea pig ileum as described in the text.

<sup>c</sup>) Effective bladder capacity was measured as the volume of saline injected into spinalized guinea pigs. The increasing effects of the test compounds were expressed as the ratio of the increase in effective bladder capacity compared with the predrug values.

## 第 4 章 KRP-103 の開発

更なる活性向上を目的として、pyrimido-oxazocine **10a** を新たなリード化合物とし、構造最適化を検討するために必要な多様な化合物の合成に適した合成ルートを新たに計画した。化合物 **14** とアミノプロパノールを縮合した後、環化することにより種々の二環性ピリミジン母核を有する類縁体へと導いた。次に鈴木反応によりビアリール結合を構築し、最後に 2 位に種々のアミンを導入することにより、目的とする二環性ピリミジン誘導体を得ることができた (スキーム 3)。

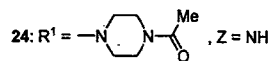
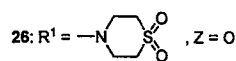
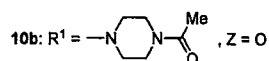
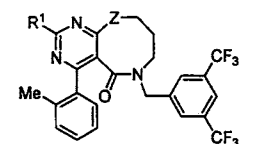


**Scheme 3.** Reagents and conditions: (a)  $\text{SOCl}_2$ , DMF, reflux, 2 h; (b) 3-[[3,5-bis(trifluoromethyl)benzyl]amino]-1-propanol or 2-[[3,5-bis(trifluoromethyl)benzyl]amino]ethanol, THF,  $0^\circ\text{C}$ , 1 h then rt, 3 h; (c)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF,  $80^\circ\text{C}$ , 1 h; (d) 2-methyl phenylboronic acid, 10 mol%  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ , 2 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , toluene, dioxane, reflux, 6 h. (e) mCPBA, THF,  $0^\circ\text{C}$ , 0.5 h then rt, 3 h; (f) 1-acetylpiperazine, 1,4-dioxane, diisopropylethylamine, reflux, 5 h.

合成した化合物について薬理活性の評価を行った結果、NK<sub>1</sub>拮抗作用に基づく頻尿・尿失禁治療薬として先行している TAK-637 を凌駕する活性を有する化合物を数種見出すことに成功した (表 2)。その中で特に優れた活性を示し、かつ良好な経口吸収性を示す化合物 **10b** (KRP-103) を精査化合物として選定した。KRP-103 は現在、臨床開発準備中である。

Table 2

Compd	NK <sub>1</sub> antagonist activity <sup>a)</sup> K <sub>B</sub> (nM)	Water solubility <sup>b)</sup> (μg / mL)	Effective bladder capacity <sup>c)</sup> increasing ratio (%)		Bioavailability <sup>d)</sup> (%)
			iv	id	
<b>10b (KRP-103)</b>	0.105	6.42	59.4 ± 12.3	62.8 ± 12.0	41
<b>26</b>	0.0794	0	40.4 ± 6.65		0
<b>24</b>	0.148	3.04	43.0 ± 15.4	29.0 ± 0.343	38
<b>TAK-637</b>	0.270		12.0 ± 5.86		



<sup>a)</sup> Data present the mean of K<sub>B</sub> value of guinea pig ileum contraction assay (n = 3–5). Compounds were screened for antagonist activity on guinea pig ileum as described in the text. <sup>b)</sup> Water solubility value determined by a single experiment run in duplicate. <sup>c)</sup> Data present the mean of increasing ratio (%) of effective bladder capacity measured as the volume of saline injected into spinalized guinea pigs at 0.3 mg/kg (iv) (n = 4–5) and 3 mg/kg (id) (n = 5–6). <sup>d)</sup> An average of 4–5 independent experiments. <sup>e)</sup> The value determined by a single experiment at 1 mg/kg (iv).

## 総括

以上のように、著者は、頻尿・尿失禁治療薬を目的とした NK<sub>1</sub> 受容体拮抗薬の創製を行った結果、高い親和性を示す pyrido[4,3-*b*]-1,5-oxazocine **2a** 及び pyrido[2,3-*b*]-1,5-oxazocine **3a** を見出すことができた。さらに **2a** 及び **3a** のビアリール結合由来の軸性キラリティー及び薬効 (in vivo) についての考察からハイブリッド化合物である pyrimido[4,5-*b*]-1,5-oxazocine **10** をデザインし、構造最適化を行った結果、in vitro で強力な NK<sub>1</sub> 受容体拮抗作用 (K<sub>B</sub> = 0.105 nM) を、in vivo で有効膀胱容量増大作用に対して高い増大率を示し、かつ良好な経口吸収性を示す KRP-103 を見出すことに成功した。この研究過程で得られた構造活性相関は、この分野における化合物デザインに有用な情報を与えるものであり、更なる発展の基礎となることが期待される。また、ピリジン並びにピリミジンを有する新規骨格とその合成法は、さまざまな置換基の導入が可能であることから、他の創薬ターゲットへの応用の可能性も考えられる。

最後に、本研究が頻尿・尿失禁で QOL を害している人々の苦しみを救うことに役立つ薬を提供することの基礎となり、その成果として得られた化合物を通して、今後、医療現場において社会に貢献できることになれば、大きな喜びである。

## 学位論文審査結果の要旨

本論文はタキキニン ( $NK_1$ ) 受容体拮抗作用に基づく頻尿・尿失禁治療薬の創製を目的として、新規二環性ピリジン及びピリミジン誘導体の構造活性相関について論じたものであり、以下に示す成果を得た。

1. 既存の  $NK_1$  受容体拮抗薬の分子モデリングによる検討から二環性ピリジン骨格を有する pyrido[4,3-b]-1,5-oxazocine と pyrido[2,3-b]-1,5-oxazocine をデザインし、新たに開発した位置選択的求核置換反応を特徴とする両誘導体の合成経路を確立した。 $NK_1$  受容体拮抗作用 (in vitro) 及び有効膀胱容量増大作用 (in vivo) を指標とした構造活性相関を検討した結果、優れた活性を示す pyrido[2,3-b]-1,5-oxazocine 誘導体を見出した。

2. Pyrido[4,3-b]-1,5-oxazocine と pyrido[2,3-b]-1,5-oxazocine の薬効及びビアリアル由来軸性キラリティーに関する比較から、それらのハイブリッドとして新たに pyrimido-[4,5-b][1,5]oxazocine をデザインし、これをリード化合物として構造最適化を行った。その結果、in vitro 及び in vivo で最も優れた薬効を示す KRP-103 を見出した。

以上のように、本研究では膀胱の収縮圧に影響することなく、収縮間隔のみを延長することで蓄尿量を増大させる新しいタイプの頻尿・尿失禁治療薬として現在臨床準備中の KRP-103 の開発に成功した。また、この過程で得られた構造活性相関に関する知見は頻尿・尿失禁治療薬開発分野における分子デザインに有用な情報を与えるものであり、本論文は博士（薬学）論文に値すると判断した。